

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2023.11.13-19>

Экспрессия генов иммунных контрольных точек при прогрессии рака почки

Апанович Н.В.¹, Апанович П.В.¹, Халмурзаев О.А.², Матвеев В.Б.², Алимов А.А.¹

1 – ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, г. Москва, Россия, ул. Москворечье, д. 1

2 – ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
115478, г. Москва, Россия, Каширское шоссе, д. 23

Светлоклеточный почечно-клеточный рак (скПКР) является наиболее распространенным и агрессивным гистологическим подтипом почечно-клеточного рака. На момент постановки диагноза у трети больных имеют место отдаленные метастазы. Значительный прогресс в лечении метастатического рака почки достигнут с началом применения таргетной терапии и терапии ингибиторами иммунных контрольных точек. Тем не менее такая терапия не всегда эффективна. В этой связи актуально изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе резистентности и прогрессирования рака почки. В данном исследовании изучены образцы опухоли от пациентов с метастатическим и неметастатическим скПКР. В опухолевой ткани по сравнению с сопутствующей ей гистологической нормой был проанализирован уровень экспрессии восьми генов: *CD274*, *LGALS9*, *PVR*, *TDO2*, *IDO1*, *CD276*, *CEACAM1* и *ADAM17*. Экспрессию генов анализировали методом ПЦР в реальном времени. В результате анализа выявили гены с наиболее часто повышенной экспрессией при скПКР: *LGALS9*, *TDO2* и *IDO1*. Показаны статистически значимые различия уровней экспрессии в изучаемых группах для генов *CD274*, *PVR* и *CD276* (тест Манна-Уитни, $p = <0,001$; $0,003$; $0,004$, соответственно). Полученные данные о молекулярно-генетических механизмах прогрессирования опухоли могут внести вклад в разработку новых терапевтических подходов.

Ключевые слова: ген, экспрессия, рак почки, иммунные контрольные точки, метастазы.

Для цитирования: Апанович Н.В., Апанович П.В., Халмурзаев О.А., Матвеев В.Б., Алимов А.А. Экспрессия генов иммунных контрольных точек при прогрессии рака почки. *Медицинская генетика* 2023; 22(11): 13-19.

Автор для корреспонденции: Апанович Наталья Владимировна; e-mail: apanovichn81@mail.ru

Финансирование: Работа выполнена по государственному заданию Минобрнауки России для ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова».

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 03.11.2023

Expression of immune checkpoint genes during kidney cancer progression

Apanovich N.V.¹, Apanovich P.V.¹, Khalmurzaev O.A.², Matveev V.B.², Alimov A.A.¹

1 – Research Centre for Medical Genetics n.a. N.P. Bochkov
1, Moskvorechye st., Moscow, 115522, Russian Federation

2 – N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation
23, Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation

Clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) is the most common and aggressive histologic subtype of renal tumors. At the time of diagnosis, one-third of patients develop distant metastases. Significant progress in the treatment of metastatic renal cancer has been made with the advent of targeted therapies based on immune checkpoint inhibitors. However, such therapy is not always effective. Therefore, it is relevant to study the molecular mechanisms underlying resistance to therapies that promote renal cancer progression. In this study, tumor samples obtained from patients with metastatic and non-metastatic ccRCC were investigated. The expression levels of eight genes, *CD274*, *LGALS9*, *PVR*, *TDO2*, *IDO1*, *CD276*, *CEACAM1* and *ADAM17*, were analyzed in tumor tissue compared with the corresponding histological normal tissue. Gene expression was analyzed by real-time PCR. *LGALS9*, *TDO2* and *IDO1* genes were found to be most frequently upregulated in kidney cancer. Statistically significant differences in expression levels in the studied groups were shown for *CD274*, *PVR* and *CD276* genes (Mann-Whitney test, $p = <0.001$; 0.003 ; 0.004 , respectively). Our findings on the molecular genetic level of tumor progression may be useful for the development of new therapeutic treatment regimens.

Keywords: gene, expression, renal cancer, immune checkpoint, metastasis.

For citation: Apanovich N.V., Apanovich P.V., Khalmurzaev O.A., Matveev V.B., Alimov A.A. Expression of immune checkpoint genes during kidney cancer progression. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2023; 22(11): 13-19. (In Russ.)

Corresponding author: Natalya V. Apanovich; **e-mail:** apanovichn81@mail.ru

Funding: The research was carried out within the state assignment and funding of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 03.11.2023

Введение

Почечно-клеточная карцинома является шестым по распространенности раком у мужчин и девятым по распространенности раком у женщин во всем мире [1]. Светлоклеточный почечно-клеточный рак (скПКР) является наиболее распространенным типом среди всех новообразований почек (80-90% случаев рака почки). Он характеризуется высокой злокачественностью и имеет самый высокий уровень смертности среди опухолей мочеполовой системы [2]. Летальность в первый год наблюдения составляет порядка 20% [3]. Примерно у 30% больных при первичной постановке диагноза выявляют отдаленные метастазы [4]. При этом 5-летняя выживаемость больных скПКР с метастазами составляет 12% [5].

С началом применения таргетной терапии и ингибиторов иммунных контрольных точек (иИКТ) при метастатическом скПКР достигнуты значительные успехи в лечении, но такая терапия не всегда дает положительный результат [6]. Только у 10-30% пациентов, получавших иИКТ в монотерапии, наблюдается устойчивый противоопухолевый эффект по сравнению со стандартными вариантами лечения. Большинство пациентов не отвечает на терапию иИКТ из-за врожденной или приобретенной резистентности опухоли. В то же время, у небольшой группы пациентов при лечении иИКТ наблюдается гиперпрогрессия заболевания с медианой общей выживаемости около 3 месяцев. Этот эффект наблюдался как у пациентов, получавших лечение ингибиторами PD-1, так и у пациентов, пролеченных ингибиторами PD-L1. Первоначально для прогнозирования эффективности анти-PD-1/PD-L1 основывались на оценке уровня экспрессии белка PD-L1, которую оценивали по результатам иммуногистохимического исследования. Но в дальнейшем было показано, что у части пациентов наблюдается клинический ответ на лечение независимо от уровня экспрессии PD-L1 в опухолевых клетках. В то же время, у другой части пациентов, несмотря на высокую экспрессию PD-L1, лечение иИКТ не приносило пользы. В связи с этим, встал вопрос о том, что для эффективности терапии иИКТ могут иметь значение и другие факторы, регулирующие иммунный ответ [7].

У значительного количества больных скПКР монотерапия иИКТ остается неэффективной, а комбинированная терапия, нередко ведет к тяжелым побочным эффектам. Показано, что блокирование белков одной иммунной контрольной точки (ИКТ) может привести к активации экспрессии других белковых молекул, регулирующих иммунный ответ. Разработка новых таргетных препаратов, нацеленных на новые ИКТ, может стать перспективным подходом к лечению скПКР в будущем [8, 9]. В этой связи расширение наших представлений о том, как опухоли скПКР избегают действия иммунного надзора, имеет решающее значение для совершенствования тактики лечения.

В данной работе исследовали уровни экспрессии восьми генов, влияющих на противоопухолевую активность иммунной системы, и их особенности в связи с прогрессией у больных скПКР.

Методы

Образцы ткани почки (опухолевая ткань — скПКР и морфологически нормальная ткань той же почки) были получены и клинически охарактеризованы в НИИ клинической онкологии ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России. Всего было исследовано 65 парных образцов ткани от пациентов со скПКР, среди них 37 мужчин и 28 женщин. В выборку были включены 27 пациентов с метастатическим и 38 с неметастатическим скПКР. Все пациенты подписали информированное согласие.

Для выделения РНК использовали набор RNeasy Mini Kit (QIAGEN, США). Выделение производили согласно инструкции к набору. Качество выделенной РНК проверяли при помощи электрофоретического разделения в 1,8% агарозном геле. Концентрацию РНК в водном растворе оценивали спектрофотометрически.

Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием набора MMLV RT (Евроген, Россия). Для регистрации сигнала полимеразной цепной реакции в реальном времени использовали оборудование QuantStudio 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, США) и соответствующее ему программное обеспечение.

В качестве реакционной смеси использовали готовую смесь qPCRMix-HS SYBR (Евроген, Россия) и оригинальные олигонуклеотидные праймеры для каждого гена (табл. 1). В качестве эндогенного контроля использовали ген *GAPDH*. Оценку относительного уровня экспрессии проводили с использованием программного обеспечения QuantStudio™ Design & Analysis Software методом $\Delta\Delta C_t$ (RQ).

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программного обеспечения Statistica 10.0 и MedCalc. Для поиска ассоциаций использовали тест Манна-Уитни (U-test) и анализ логистической регрессии. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Экспрессию генов при прогрессии рака почки изучали на выборке парных образцов ткани опухоли и сопутствующей ей нормальной ткани, полученной в ходе резекции первичного очага. Средний возраст больных 60,6 года. На гистологическом уровне все образцы опухолевой ткани были классифицированы как

скПКР. Обобщённые клинико-морфологические характеристики больных представлены в табл. 2.

В исследовании проанализировано 65 парных образцов, доля образцов от больных метастатической формой рака почки составила порядка 42%. Вторичные опухолевые очаги были локализованы в типичных для рака почки тканях и органах с преобладанием метастазов в легкие.

В исследовании оценивали изменение уровней экспрессии генов *CD274*, *LGALS9*, *PVR*, *TDO2*, *IDO1*, *CD276*, *CEACAM1* и *ADAM17* в опухолевой ткани по сравнению с сопутствующей ей гистологической нормой. Перечисленные гены относятся к группе генов, вовлеченных в регуляцию иммунного ответа. Неконтролируемая экспрессия этих генов способствует ускользанию опухоли от действия иммунного надзора. Повышенным считали уровень экспрессии гена в опухоли, отличающийся в 2 и более раз от экспрессии в нормальной ткани. Результаты анализа представлены в табл. 3.

Дисрегуляция экспрессии была выявлена для всех генов, но с разной частотой. Реже всего она наблюдалась при анализе экспрессии генов *PVR* и *CEACAM1*, играющих роль в клеточной адгезии, и чаще всего при анализе генов *LGALS9*, *TDO2* и *IDO1*, вовлеченных в негатив-

Таблица 1. Последовательности праймеров для ПЦР-РВ.

Table 1. List of primers for Real-Time PCR.

Ген	Направление	Последовательность (5'→3')	Длина продукта (п.н.)
<i>CD274</i>	Forward	GTGCCGACTACAAGCGAATT	104
	Reverse	TGTCAGTTCATGTTTCAGAGGTG	
<i>LGALS9</i>	Forward	GATGAGAATGCTGTGGTCCG	260
	Reverse	GAAGCCGCCTATGTCTGCA	
<i>PVR</i>	Forward	CTACACCTGCCTGTTTCGTCA	186
	Reverse	TCTGAGTGCCAGGTGATTTG	
<i>TDO2</i>	Forward	TCCTCAGGCTATCACTACCTGC	110
	Reverse	ATCTTCGGTATCCAGTGTCCG	
<i>IDO1</i>	Forward	CCAGCTATCAGACGGTCTG	228
	Reverse	CGGACTGAGGGATTTGACTC	
<i>CD276</i>	Forward	GGCTGTCTGTCTGTCTCATTG	176
	Reverse	TCCATCATCTTCTTTGCTGTCA	
<i>CEACAM1</i>	Forward	CCACTTCACAGAGTGCGTGTA	182
	Reverse	CAGCTGTAGCCAAAAGTTGC	
<i>ADAM17</i>	Forward	GCTTGATCTTGGCAAGTGT	150
	Reverse	CATCGACATAGGGCACACAG	
<i>GAPDH</i>	Forward	GGCTGCTTTTAACTCTGG	190
	Reverse	GGAGGGATCTCGCTCC	

ную регуляцию Т-клеточного ответа. Проведена оценка связи между изменением уровня экспрессии генов и метастатической стадией развития болезни. Для этого сравнили экспрессию генов в ткани опухоли у больных с метастазами и без. Результаты сравнения относительной экспрессии между группами представлены на **рис. 1**.

Было показано, что для всех генов, кроме *IDO1*, значения медиан уровня экспрессии больше в группе без метастазов, что подтверждает анализ частот повышения экспрессии генов, представленный на **рис. 2**.

Оценку значимости наблюдаемых различий проводили с использованием теста Манна-Уитни и анализа логистической регрессии. Полученные результаты представлены в **табл. 4**.

В результате проведенной оценки выяснили, что увеличение уровня экспрессии генов, регулирующих иммунный ответ, не связано с прогрессией опухоли. Напротив, для генов *CD274*, *PVR* и *CD276* обнаружено достоверное снижение в группе образцов от пациентов с метастатическим раком почки.

Обсуждение

В настоящей работе исследовали некоторые генетические особенности опухолевых клеток, которые формируются при участии сигнальных молекул клеток опухолевого окружения, что имеет значение при выборе стратегии лечения [10].

Таблица 2. Клинико-морфологические характеристики больных со скПКР.

Table 2. Clinical features and morphologic characterization of the sample.

Характеристика		Количество больных
Стадия TNM	I	22
	II	4
	III	16
	IV	23
Наличие метастазов	С метастазами	27
	Без метастазов	38
Локализация метастазов	Лимфатические узлы	13
	Легкие	11
	Надпочечник	5
	Кости	3
	Печень	2
	Другие	5

Таблица 3. Частота повышения уровней экспрессии генов в выборке.

Table 3. Frequency of elevated expression levels in the sample.

Ген	Частота изменения экспрессии по отношению к норме, повышена/не повышена	Доля образцов с повышенной экспрессией, %
<i>CD274</i>	10 /55	15,4
<i>LGALS9</i>	28/37	43,1
<i>ADAM17</i>	13/52	20
<i>PVR</i>	7/58	10,8
<i>TDO2</i>	25/40	38,5
<i>IDO1</i>	36/29	55,4
<i>CD276</i>	18/47	27,7
<i>CEACAM1</i>	8/57	12,3

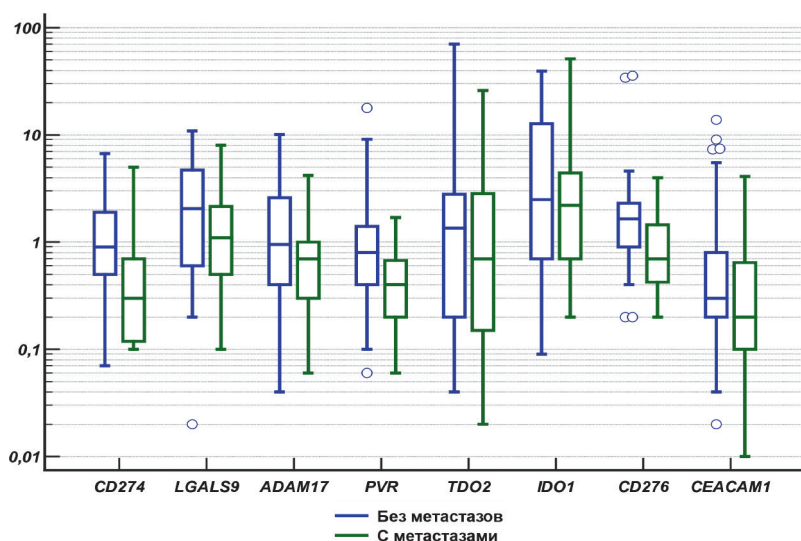


Рис. 1. Относительная экспрессия генов (RQ) в группах без метастазов и с метастазами. Значения экспрессии генов представлены в логарифмическом масштабе.

Fig. 1. Relative gene expression (RQ) in groups without and with metastases. Gene expression values are presented in logarithmic scale.

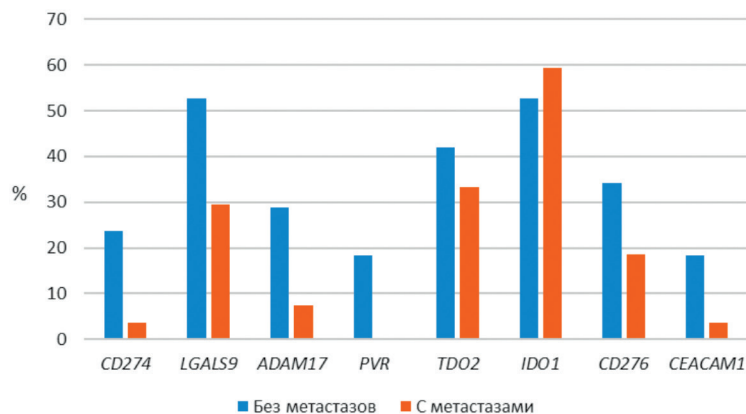


Рис. 2. Частота повышенной экспрессии генов ИКТ в опухоли скПКР относительно нормальной ткани в группах без метастазов и с метастазами.

Fig. 2. Incidence of elevated expression of immune checkpoint genes versus normal tissue in groups without and with metastases.

Таблица 4. Значимость различий уровней экспрессии в группах опухолей скПКР без метастазов и при метастазировании.

Table 4. Significance of detected differences in expression levels in tumors without and with metastasis.

Гены	Манна-Уитни тест, р	Логистическая регрессия, р
<i>CD274</i>	<0,001	0,0325
<i>LGALS9</i>	0,064	0,047
<i>PVR</i>	0,003	0,027
<i>TDO2</i>	0,484	0,825
<i>IDO1</i>	0,675	0,640
<i>CD276</i>	0,004	0,035
<i>CEACAM1</i>	0,109	0,124
<i>ADAM17</i>	0,057	0,054

Выявлены гены (*LGALS9*, *TDO2* и *IDO1*), уровень экспрессии которых наиболее часто повышается при скПКР. Два из них, *TDO2* и *IDO1*, связаны с катаболизмом триптофана и играют важную роль при формировании механизмов ускользания опухолевой клетки от действия иммунного надзора. *TDO2* — триптофан 2,3-диоксигеназа и *IDO1* — индоламин 2,3-диоксигеназа осуществляют окисление L-триптофана в N-формил-L-кинуренин, что является первой и лимитирующей стадией кинуренинового пути [11]. Ген *LGALS9* кодирует белок галектин 9, который является лигандом рецептора Tim-3, маркера истощения цитотоксических Т-лимфоцитов [12]. Ранее отмечалось, что уровень экспрессии *IDO1* и *LGALS9* часто повышен при раке почки [9]. Таким образом, наблюдаемое увеличение уровня экспрессии является одним из ключевых механизмов, обеспечивающих ускользание клеток опухоли почки от действия иммунного надзора. Важно отметить, что данный эффект наблюдается на фоне понижения экспрессии другой ключевой молекулы, участвующей в индукции анергии цитотоксической субпопуляции Т-лимфоцитов, PD-L1 (CD274). Данный лиганд подавляет Т-клеточный иммунитет посредством взаимодействия с рецепторами на Т-клетках, такими как PD-1 и CD80 (B7.1) [13]. Показано, что при пониженной экспрессии PD-L1 в опухолевых клетках, но повышенной экспрессии IDO1 в ткани скПКР, ответ на лечение ниволумабом (моноклональное антитело против белка PD-1) может быть значительно лучше, чем в группе сравнения [14].

В нашем исследовании при анализе тканей, полученных от больных метастатическим и неметастатическим скПКР, были выявлены различия в уровнях экспрессии ряда генов между группами. Показано, что для генов *CD274*, *PVR* и *CD276*, имеющих отношение к активации процессов миграции, инвазии и ускользания опухоли от действия иммунного надзора, характерно повышение уровня экспрессии на ранних стадиях развития опухоли [15, 16]. Полученные сведения подтверждают существующие наблюдения о том, что для части больных низкая экспрессия *CD274* может быть связана с плохой общей выживаемостью и выживаемостью без прогрессирования при скПКР [17]. Похожие результаты были получены и при анализе ассоциации пониженного уровня PD-L1 с метастазированием и рецидивированием опухоли при трижды негативном раке молочной железы [18]. Эти данные указывают на то, что пониженный уровень экспрессии *CD274* может быть ассоциирован с прогрессией заболевания у части больных. Полученные нами сведения об особенностях

экспрессии генов *PVR* и *CD276* в опухоли скПКР в зависимости от процесса метастазирования являются новыми и расширяют существующие представления о молекулярных механизмах прогрессии скПКР. Очевидно, что подавление экспрессии этих генов предпочтительнее на ранних стадиях развития рака почки, что необходимо учитывать при разработке новых стратегий лечения с использованием таргетных препаратов.

Заключение

В данном исследовании получены данные о генах с наиболее часто повышенным уровнем экспрессии — это гены *LGALS9*, *TDO2* и *IDO1*. Впервые выявлено снижение уровней экспрессии генов *PVR* и *CD276* при метастатическом скПКР по сравнению с неметастатическим. Эти результаты могут быть полезными для разработки новых терапевтических подходов к персонализированной медицине, а также для лучшего понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе прогрессирования скПКР.

Литература

1. Siegel R.L., Miller K.D., Wagle N.S., Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA A Cancer J. Clin.* 2023; 73: 17–48.
2. Ljungberg B., Albiges L., Bedke J., et al. EAU Guidelines on Renal Cell Carcinoma; 2023; ISBN 978-94-92671-19-6.
3. Мерабишвили В.М., Полторацкий А.Н., Носов А.К., и др. Состояние онкологической помощи в России. Рак почки (заболеваемость, смертность, достоверность учета, одногодичная и годовичная летальность, гистологическая структура). Часть 1. Онкоурология. 2021; 17(2): 182–194. DOI: 10.17650/1726-9776-2021-17-2-182-194
4. Athanazio D.A., Amorim L.S., da Cunha I.W., et al. Classification of renal cell tumors — current concepts and use of ancillary tests: recommendations of the Brazilian Society of Pathology. *Surg Exp Pathol* 4, 4. 2021. <https://doi.org/10.1186/s42047-020-00084-x>.
5. Makino T., Kadomoto S., Izumi K., Mizokami A.. Epidemiology and Prevention of Renal Cell Carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2022; 14(16): 4059. DOI: 10.3390/cancers14164059
6. Samnani S., Sachedina F., Gupta M., et al. Mechanisms and clinical implications in renal carcinoma resistance: narrative review of immune checkpoint inhibitors. *Cancer Drug Resist* 2023;6:416–29. <http://dx.doi.org/10.20517/cdr.2023.02>
7. Lecis D., Sangaletti S., Colombo M.P., Chiodoni C. Immune Checkpoint Ligand Reverse Signaling: Looking Back to Go Forward in Cancer Therapy. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(5):624. doi: 10.3390/cancers11050624.
8. Xu W., Atkins M.B., McDermott D.F. Checkpoint inhibitor immunotherapy in kidney cancer. *Nat Rev Urol*. 2020; 17: 137–150. <https://doi.org/10.1038/s41585-020-0282-3>.
9. Lasorsa F., di Meo N.A., Rutigliano M., et al. Immune Checkpoint Inhibitors in Renal Cell Carcinoma: Molecular Basis and Rationale for Their Use in Clinical Practice. *Biomedicines*. 2023; 11: 1071. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11041071>

10. López de Andrés J., Griñán-Lisón C., Jiménez G., Marchal J.A.. Cancer stem cell secretome in the tumor microenvironment: a key point for an effective personalized cancer treatment. *J Hematol Oncol.* 2020;13(1):136. doi: 10.1186/s13045-020-00966-3.
11. Munn D.H., Mellor A.L.. IDO in the tumor microenvironment: inflammation, counter-regulation, and tolerance. *Trends Immunol.* 2016;37(3):193–207.
12. Moar P., Tandon R. Galectin-9 as a biomarker of disease severity. *Cell Immunol.* 2021;361:104287. doi: 10.1016/j.cellimm.2021.104287.
13. Cai J., Wang D., Zhang G., Guo X. The role of PD-1/PD-L1 axis in treg development and function: implications for cancer immunotherapy. *Onco Targets Ther.* 2019; 12: 8437–8445
14. Seeber A., Klinglmair G., Fritz J., et al. High IDO-1 expression in tumor endothelial cells is associated with response to immunotherapy in metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Sci.* 2018;109(5):1583–1591. doi: 10.1111/cas.13560.
15. Maier M.K., et al. The adhesion receptor CD155 determines the magnitude of humoral immune responses against orally ingested antigens. *Eur. J. Immunol.* 2007; 37(8): 2214–2225.
16. Liu S., Liang J., Liu Z., et al. The Role of CD276 in Cancers. *Front Oncol.* 2021;11:654684. doi: 10.3389/fonc.2021.654684.
17. Liao G., Wang P., Wang Y. Identification of the Prognosis Value and Potential Mechanism of Immune Checkpoints in Renal Clear Cell Carcinoma Microenvironment. *Front Oncol.* 2021;11:720125. doi: 10.3389/fonc.2021.720125.
18. Hoda R.S., Brogi E., Dos Anjos C.H., et al. Clinical and pathologic features associated with PD-L1 (SP142) expression in stromal tumor-infiltrating immune cells of triple-negative breast carcinoma. *Mod Pathol.* 2020;33(11):2221–2232. doi: 10.1038/s41379-020-0606-0.
5. Makino T., Kadomoto S., Izumi K., Mizokami A.. Epidemiology and Prevention of Renal Cell Carcinoma. *Cancers (Basel).* 2022; 14(16): 4059. DOI: 10.3390/cancers14164059
6. Samnani S., Sachedina F., Gupta M., et al. Mechanisms and clinical implications in renal carcinoma resistance: narrative review of immune checkpoint inhibitors. *Cancer Drug Resist* 2023;6:416–29. <http://dx.doi.org/10.20517/cdr.2023.02>
7. Lecis D., Sangaletti S., Colombo M.P., Chiodoni C. Immune Checkpoint Ligand Reverse Signaling: Looking Back to Go Forward in Cancer Therapy. *Cancers (Basel).* 2019;11(5):624. doi: 10.3390/cancers11050624.
8. Xu W., Atkins M.B., McDermott D.F. Checkpoint inhibitor immunotherapy in kidney cancer. *Nat Rev Urol.* 2020; 17: 137–150. <https://doi.org/10.1038/s41585-020-0282-3>.
9. Lasorsa F., di Meo N.A., Rutigliano M., et al. Immune Checkpoint Inhibitors in Renal Cell Carcinoma: Molecular Basis and Rationale for Their Use in Clinical Practice. *Biomedicines.* 2023; 11: 1071. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11041071>
10. López de Andrés J., Griñán-Lisón C., Jiménez G., Marchal J.A.. Cancer stem cell secretome in the tumor microenvironment: a key point for an effective personalized cancer treatment. *J Hematol Oncol.* 2020;13(1):136. doi: 10.1186/s13045-020-00966-3.
11. Munn D.H., Mellor A.L.. IDO in the tumor microenvironment: inflammation, counter-regulation, and tolerance. *Trends Immunol.* 2016;37(3):193–207.
12. Moar P., Tandon R. Galectin-9 as a biomarker of disease severity. *Cell Immunol.* 2021;361:104287. doi: 10.1016/j.cellimm.2021.104287.
13. Cai J., Wang D., Zhang G., Guo X. The role of PD-1/PD-L1 axis in treg development and function: implications for cancer immunotherapy. *Onco Targets Ther.* 2019; 12: 8437–8445
14. Seeber A., Klinglmair G., Fritz J., et al. High IDO-1 expression in tumor endothelial cells is associated with response to immunotherapy in metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Sci.* 2018;109(5):1583–1591. doi: 10.1111/cas.13560.
15. Maier M.K., et al. The adhesion receptor CD155 determines the magnitude of humoral immune responses against orally ingested antigens. *Eur. J. Immunol.* 2007; 37(8): 2214–2225.
16. Liu S., Liang J., Liu Z., et al. The Role of CD276 in Cancers. *Front Oncol.* 2021;11:654684. doi: 10.3389/fonc.2021.654684.
17. Liao G., Wang P., Wang Y. Identification of the Prognosis Value and Potential Mechanism of Immune Checkpoints in Renal Clear Cell Carcinoma Microenvironment. *Front Oncol.* 2021;11:720125. doi: 10.3389/fonc.2021.720125.
18. Hoda R.S., Brogi E., Dos Anjos C.H., et al. Clinical and pathologic features associated with PD-L1 (SP142) expression in stromal tumor-infiltrating immune cells of triple-negative breast carcinoma. *Mod Pathol.* 2020;33(11):2221–2232. doi: 10.1038/s41379-020-0606-0.

References

1. Siegel R.L., Miller K.D., Wagle N.S., Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA A Cancer J. Clin.* 2023; 73: 17–48.
2. Ljungberg B., Albiges L., Bedke J., et al. EAU Guidelines on Renal Cell Carcinoma; 2023; ISBN 978-94-92671-19-6.
3. Merabishvili V.M., Poltorackiy A.N., Nosov A.K., Artem'eva A.S., Merabishvili E.N. Sostoyanie onkologicheskoy pomoshchi v Rossii. Rak pochki (zabolevaemost', smertnost', dostovernost' ucheta, odnogodichnaya i pogodichnaya letal'nost', gistologicheskaya struktura). CHast' 1. [The state of oncology care in Russia. Kidney cancer (morbidity, mortality, index of accuracy, one-year and year-by-year mortality, histological structure). Part 1]. *Onkourologiya [Cancer Urology]*. 2021;17(2):182–194. (In Russ.) <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2021-17-2-182-194>
4. Athanazio D.A., Amorim L.S., da Cunha I.W., et al. Classification of renal cell tumors — current concepts and use of ancillary tests: recommendations of the Brazilian Society of Pathology. *Surg Exp Pathol* 4, 4. 2021. <https://doi.org/10.1186/s42047-020-00084-x>.